Beobachtungen über die Plasmolyse II. Zur Protoplasmatik der Staubblatthaarzellen von Tradescantia

Von B. J. von Cholnoky

Mit 31 Textabbildungen

(Vorgelegt in der Sitzung am 19. November 1953)

In der neuzeitlichen Literatur wird das Permeabilitätsproblem der Pflanzenzelle und erfreulicherweise auch die Rolle der einzelnen theoretischen oder optisch manifesten Plasmabestandteile erneut in Angriff genommen (vgl. z. B. die zusammenfassende Darstellung Höflers, 1952). Dabei wird die Ursache der beobachteten Erscheinungen in den Hautschichten des Plasmas gesucht, die als konstante, permanente, anatomische Teile der Pflanzenzelle — im Sinne von H. de Vries (1885) und Plowe (1931 a und b) — aufgefaßt werden. In meinen neueren Untersuchungen mußte ich aber feststellen, daß die optisch manifesten Grenzschichten des mit einer protoplasmatischen Methode untersuchten Protoplasmas (und die der Teile dessen) nicht mit einer theoretischen oder sichtbaren Hautschicht des ruhenden, unversehrten Protoplasmas identisch sein müssen. In einem Falle habe ich Erscheinungen beobachtet (Cholnoky 1953), die mich zu der Schlußfolgerung gezwungen haben, daß die optisch manifesten Grenzschichten zumindest teilweise neu gebildet werden und so keinesfalls identisch mit einer permanenten Hautschicht des Protoplasmas sein können. Da ich auf Grund der beobachteten Tatsachen immer geneigt war, mich zu der Auffassung Seifriz' (z. B. 1936), der die Semipermeabilität für eine Gesamtleistung des ganzen Protoplasmas hält, anzuschließen, erschien mir eine nähere Untersuchung dieser Frage unerläßlich.

Nach der Auffassung von Seifriz (1936) wäre also die Gesamtheit des Protoplasmas und nicht nur einzelne Schichten für die Hemmung der freien Bewegung der intrameierenden Moleküle verantwortlich. Nach meiner Meinung will diese Auffassung keinesfalls behaupten, daß das Maß der Hemmung nunmehr in dem

ganzen Plasma vollkommen gleichmäßig verteilt wäre. Wenn man demzufolge beweisen könnte, daß das Plasma oder das Vakuolum nicht nur in ihrer Gänze, sondern daß auch ihre durch künstliche Eingriffe voneinander getrennten, isolierten Teile osmotische Funktionen verrichten können, wäre auch bewiesen, daß Grenzschichten im Protoplasten entstehen können, welche nicht identisch mit den Hautschichten sind. So können letztere auch nicht allein für die osmotischen Erscheinungen und die Permeabilität verantwortlich gemacht werden. Mit anderen Worten, das Protoplasma hätte nicht nur in seinen Hautschichten ein beschützendes System, im Gegenteil könnte so ein System gelegentlich überall aus allen Teilen des Protoplasten entstehen. Meine früheren Untersuchungen (Cholnoky 1950, 1951 a und b, 1952) haben mich darauf aufmerksam gemacht, daß in der Nekrobiose streng umschriebene, mit einer optisch manifesten Grenzschicht umgebene Teile des Vakuolums und des Protoplasmas überleben können, wodurch jetzt die Richtung der Untersuchungen, mit welchen ich die Frage entscheiden wollte, ob die Grenzschichten der noch osmotisch reagierenden Plasmateile mit den Hautschichten des Protoplasmas identisch sein können, festgelegt war.

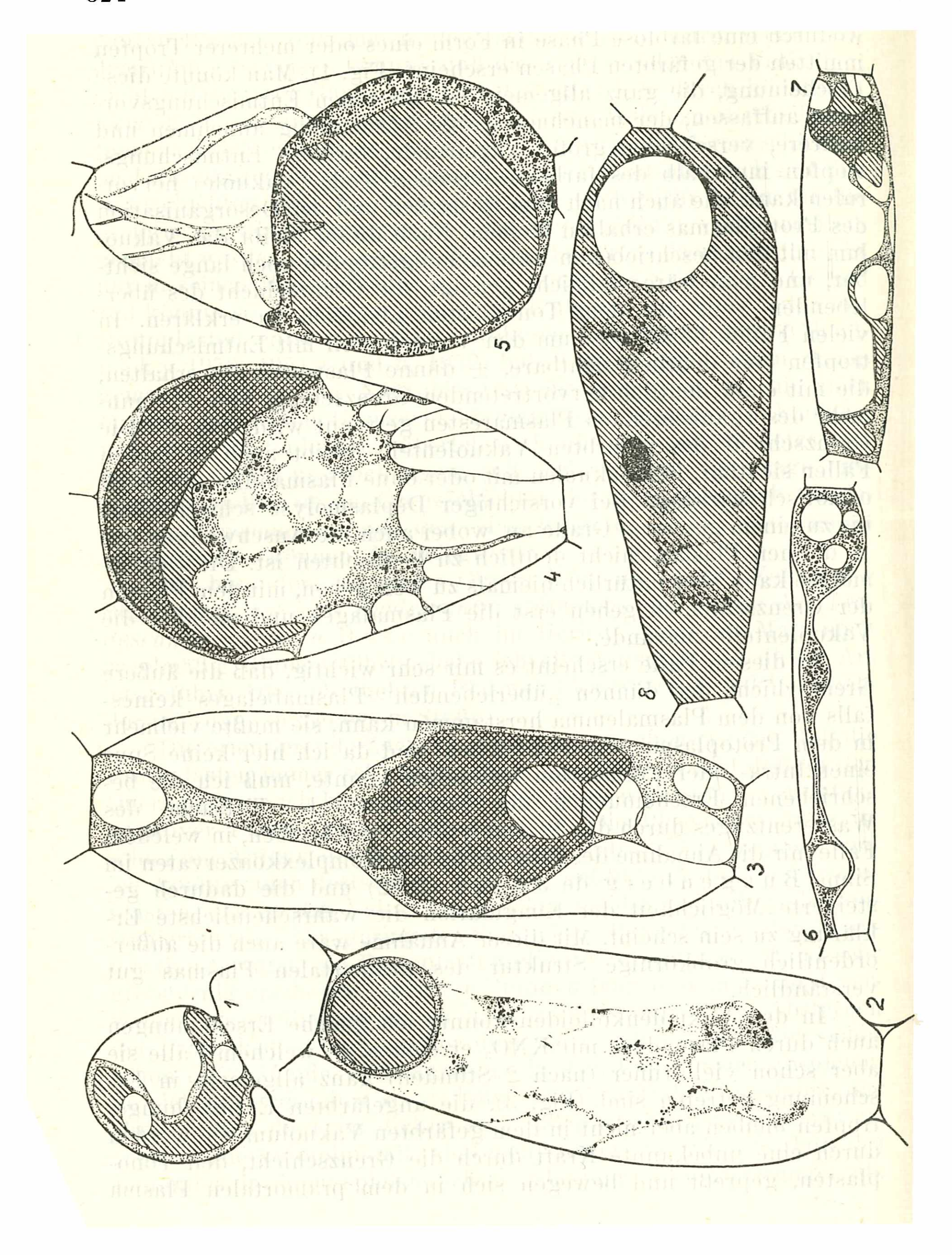
Ein besonders günstiges Objekt habe ich in den Zellen der Staubblatthaare von *Tradescantia* gefunden, und da die Art *Tradescantia gigantea* Rose auch im Herbst (April bis Mai) noch regelmäßig Blumen führte, habe ich alle Versuche mit dieser Art ausgeführt. Die gebrauchten Plasmolytika waren 1-mol-Lösungen der im Texte angegebenen Stoffe.

Die orientierende Zuckerplasmolyse hat schon gezeigt, daß die Protoplasten immer sehr krampfhaft kontrahieren und daß an den Querwänden auch hier — wie in den meisten Haaren — ein stark negativer Plasmolyseort vorhanden ist. Die Plasmabewegung ist schon am Anfang der Kontraktion zum Stillstand gekommen, und ich konnte auch feststellen, daß der gefärbte Anteil des Protoplasten, das ist das Vakuolum, stärker als die anderen Teile kontrahiert. Ohne die geringste Spur einer Permeation oder Intrameation konnten die Protoplasten, die schon im Ruhezustand sehr grobkörnig erscheinen, mehrere Stunden lang in dem Krampf verweilen, bis endlich, meistens nach 3—5 Stunden, das Absterben der Protoplasten beginnt. Vor dieser Zeit müssen sich aber sicher schon tiefgreifende Veränderungen in dem Protoplasma abspielen, da sich das Vakuolum schon lange vor dem Tode verkleinert, das Protoplasma dagegen dicker und außerordentlich grobkörnig erscheint. Die Vakuolumteile sind wohl immer in der Zwangslage des Krampfes, in ihnen spielen sich aber kolloidale Veränderungen ab,

wodurch eine farblose Phase in Form eines oder mehrerer Tropfen inmitten der gefärbten Phasen erscheint (Fig. 1). Man könnte diese Erscheinung, die ganz allgemein ist, als einen Entmischungsvorgang auffassen, der manchmal große Ausdehnung annehmen und mehrere, verschieden große, kugelrunde, farblose Entmischungstropfen innerhalb des farbstoffführenden Teils (Vakuole) hervorrufen kann, die auch nach dem Absterben und der Desorganisation des Protoplasmas erhalten bleiben. Nach dieser bleibt das Vakuolum mit den beschriebenen Entmischungstropfen noch lange sichtbar, und man wäre vielleicht geneigt, die Grenzschicht des überlebenden Teils mit dem Tonoplasten identisch zu erklären. In vielen Fällen bleibt aber um den Vakuolenteil mit Entmischungstropfen eine deutlich sichtbare, ± dünne Plasmaschicht erhalten, die mit einer deutlich hervortretenden Grenzschicht von den nunmehr desorganisierenden Plasmaresten getrennt wird (Fig. 2). Die Grenzschicht des gefärbten Vakuolenteils bleibt auch in diesen Fällen sichtbar. Die Vakuolen mit oder ohne Plasmahülle sind noch osmotisch wirksam. Bei vorsichtiger Deplasmolyse schwellen sie bis zu einem gewissen Grade an, wobei auch die Anschwellung der ± dünnen Plasmaschicht deutlich zu beobachten ist. Die Deplasmolyse kann aber natürlich niemals zu weit gehen, mit dem Platzen der Grenzschichten gehen erst die Plasmalagen und nachher die Vakuolenteile zugrunde.

In diesem Falle erscheint es mir sehr wichtig, daß die äußere Grenzschicht des dünnen „überlebenden" Plasmabelages keinesfalls von dem Plasmalemma herstammen kann, sie mußte vielmehr in dem Protoplasma selbst entstehen, und da ich hier keine Spur einer Intra- oder Permeation feststellen konnte, muß ich die beschriebenen Erscheinungen der Nekrobiose der Tatsache des Wasserentzuges durch das Plasmolytikum zuschreiben, in welchem Falle mir die Annahme des Entstehens von Komplexkoazervaten im Sinne Bungenberg de Jongs (1932) und die dadurch gesteigerte Möglichkeit der Koagulation die wahrscheinlichste Erklärung zu sein scheint. Mit dieser Annahme wäre auch die außerordentlich grobkörnige Struktur des prämortalen Plasmas gut verständlich.

In den Vakuolenkolloiden konnte ich gleiche Erscheinungen auch durch Plasmolyse mit KNO_3 erreichen, in welchem Falle sie aber schon viel früher (nach 2 Stunden) ganz allgemein in Erscheinung getreten sind (Fig. 3), die ungefärbten Entmischungstropfen bleiben aber nicht in dem gefärbten Vakuolum, sie werden durch eine unbekannte Kraft durch die Grenzschicht, den Tonoplasten, gepreßt und bewegen sich in dem prämortalen Plasma


1
2
3
4
5
6
7
8

wahrscheinlich nach den Stellen des niedrigsten Widerstandes, wo sie sich abrunden können. Diese Erscheinungen sind schon an sich ein Zeichen dafür, daß das KNO_3 — vermutlich durch Intrameation der Moleküle — den Protoplasten anders als die Saccharose beeinflußt und verändert hatte. Die Deplasmolyseversuche haben bewiesen, daß alle diese entmischten Phasen und Phasenkomplexe noch osmotisch reagieren können. Am meisten bedeutungsvoll ist, daß am Anfang der Plasmolyse der Protoplast auch hier sehr krampfhaft zusammengezogen war, wodurch auch die Sole des Vakuolums Zwangformen aufgenommen hat (Fig. 4). Der Protoplast ist in diesem Falle mit einer besonders im Phasenkontrast gut sichtbaren, aber dünnen Schicht begrenzt, die man mit dem Plasmalemma Plowes identifizieren kann. Nach kaum einer Stunde wird aber die Struktur des Protoplasmas, als Zeichen einer fortschreitenden Koazervation, besonders grobkörnig, die verzweigten Plasmastränge der ursprünglichen negativen Plasmolyseorte behalten aber ihre ursprüngliche Struktur, und hier erscheint innerhalb des Protoplasten eine neue Grenzschicht, die nunmehr die grobkörnigen Teile des Plasmas von den feinkörnigen scheidet. Das Erscheinen dieser neuen Grenzschicht, die natürlich nichts mehr mit dem Plasmalemma zu tun hat, geht mit einer mehr oder minder weitgehenden Abrundung des innerhalb der sekundären Grenzschicht liegenden Plasmateiles einher, wodurch auch das Vakuolum eine mehr kugelrunde Form annehmen kann. Die neue Grenzschicht ist viel dicker, deutlicher als die ursprüngliche, krampfhaft kontrahierte. Die abgetrennten, feinkörnigen Plasmateile fallen in Gruppen ± feiner Körner auseinander. Die Gruppen werden durch nicht koagulierte Phasen so zusammengehalten, daß sie ungefähr in ihrer ursprünglichen Lage verbleiben (Fig. 5).

Die beschriebenen Erscheinungen beweisen eindeutig, daß die durch die Plasmolyse und Intrameation verursachten Schädigungen die einzelnen Phasenkomplexe des Protoplasmas nicht gleichzeitig inaktivieren und desorganisieren; so schreitet die Koazervation und die damit verbundene Koagulation der verschiedenen Plasmateile auch nicht überall gleichzeitig und gleichmäßig fort. Nach der Natur und Struktur der einzelnen Plasmaphasen und Bereiche sind die so verursachten Veränderungen auch kolloidphysisch und

---

Erklärung zu nebenstehenden Abbildungen.

Zellen der Staubfadenhaare von *Tradescantia giganteu* Rose.

1—2. Plasmolyse und Nekrobiose durch 1-mol-Saccharose; 3—6. dieselbe durch 1-mol-KNO_3; 7—8. dieselbe durch 1-mol-NaCl. Nähere Erklärung im Text.

auch chemisch verschieden, wodurch die großen Unterschiede in den Veränderungen erklärlich werden. Meistens bleiben die Vakuolenhäute am längsten osmotisch funktionsfähig („überlebende Vakuolen“, „Tonoplastenplasmolyse“), an diesen können sich aber oft ansehnliche Teile des ungefärbten Plasmas anschließen (Fig. 2), in anderen Fällen aber, besonders in der Nähe der Wundstelle, desorganisieren zuerst die Vakuolenkolloide (aber auch kleinere Teile des Protoplasmas), so daß hier auch gänzlich vakuolenfreie, kontrahierte, mit einer stark lichtbrechenden Schicht begrenzte Protoplasten übrigbleiben (Fig. 6). Diese scharf begrenzten Plasmateile — gänzlich abgesehen davon, ob sie noch mit einem Rest des gefärbten Vakuolums ausgestattet sind oder nicht — sind noch zeitweise deplasmolysierbar, da sie in hypotonischem Medium bis zu einem gewissen Grade anschwellen und danach bersten und desorganisieren.

Eine sehr charakteristische Erscheinung ist, daß hier in den Plasma- oder Vakuolenkolloiden — ebenso wie nach langdauernder Zuckerplasmolyse — ± große, optisch homogene Tröpfchen erscheinen, deren Entstehung nicht durch eine Wasseraufnahme aus dem Plasmolytikum der Umgebung zu erklären ist, da während ihres Entstehens die Dimensionen des Protoplasten unverändert bleiben. Die Entwicklung dieser homogen erscheinenden Tröpfchen ist unter dem Mikroskop genau zu verfolgen. Meines Erachtens nach können wir für diese, bei allen langdauernden Plasmolysen allgemein eintretende Erscheinung nur eine Erklärung finden, nämlich daß der Wasserentzug, aber auch die Veränderungen in der elektrischen Ladung und chemischen Struktur der Plasmakolloide eine Koazervation verursachen; die erscheinenden kugelrunden Tröpfchen stellen die dünne Sole einer „Gleichgewichtsflüssigkeit“ dar, die nur prämortal verschwinden. Einen typischen Fall stellt die Figur 7 dar, wo die Lage mit der Figur 6 gut vergleichbar ist, sie zeigt, daß die kugelrunden Tröpfchen im Protoplasten keine farblosen Vakuolenteile, sondern solche einer Gleichgewichtsflüssigkeit sind.

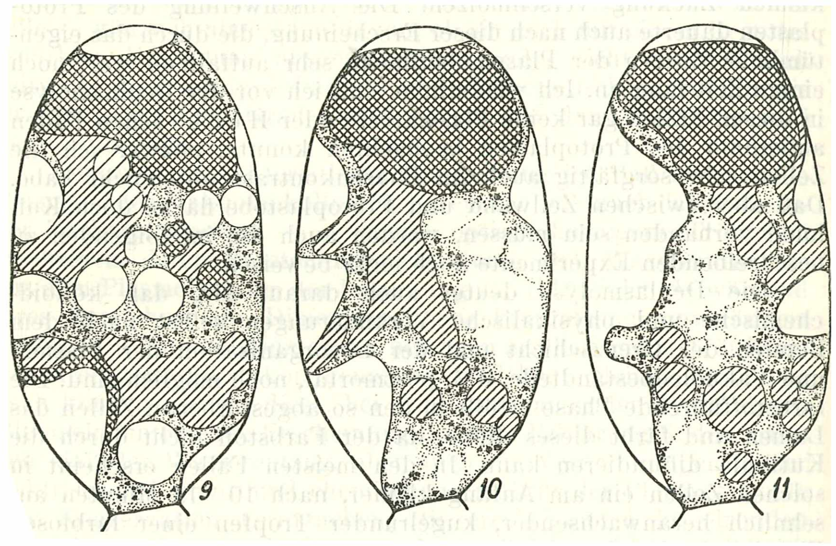
Die NaCl-Plasmolyse verläuft genau so wie bei KNO_3 beschrieben, da aber die NaCl-Moleküle schneller intrameieren und auch dadurch die schädigende Wirkung der Plasmolyse verstärken, dauert der Vorgang höchstens 90—100 Minuten. Nach dieser Zeit erstarrt der Protoplast — sicher durch fortschreitende Koagulation —, und durch Veränderungen in den Vakuolenkolloiden verschwindet auch die scharfe Grenze der farbstoffführenden Phasen, wodurch gleichzeitig auch das Herausdiffundieren des Anthozyans möglich wird.

Sowohl nach KNO_3- als auch nach NaCl-Plasmolyse hat die Deplasmolyse vor der vollkommenen Desorganisation eigentümliche Erscheinungen gezeitigt. Obwohl ich bei den Protoplasten, die in einem den Figuren 6 und 7 ähnlichen Zustand verharrten, gar keine Hechtschen Fäden und keine Plasmaschicht an der Innenseite der Zellwand beobachten konnte, entstehen hier am Anfang der Verringerung der Hypertonie kleine Tröpfchen, die zuerst an der Innenseite der Zellwand erschienen und danach nach dem Protoplasten zu gezogen wurden, mit dem sie nach einer kleinen Zuckung verschmolzen. Die Anschwellung des Protoplasten dauerte auch nach dieser Erscheinung, die durch das eigentümliche Zittern der Plasmaoberfläche sehr auffallend war, noch einige Zeit lang an. Ich wiederhole, daß ich vor der Deplasmolyse in diesen Fällen gar keine Plasmareste oder Hechtschen Fäden außerhalb des Protoplasten beobachten konnte, obzwar ich die Zellen sehr sorgfältig auch im Phasenkontrast untersucht habe. Daß aber zwischen Zellwand und Protoplastoberfläche doch Kolloide vorhanden sein müssen, werden auch die im folgenden zu beschreibenden Experimente noch mehr beweisen.

Die Deplasmolyse deutet auch darauf hin, daß kolloidchemische und physikalische Veränderungen selbst nach dem Bersten der Grenzschicht und der Desorganisation der Plasma- und Vakuolenbestandteile, d. i. postmortal, noch möglich sind. Die farbstofführende Phase erfüllt in den so abgestorbenen Zellen das Lumen und färbt dieses diffus, da der Farbstoff nicht durch die Kutikula diffundieren kann. In den meisten Fällen erscheint in solchen Zellen ein am Anfang kleiner, nach 10—12 Minuten ansehnlich heranwachsender, kugelrunder Tropfen einer farblosen Flüssigkeit, die sich von der Umgebung mit einer scharfen Grenze abhebt und die grobkörnigen Plasmareste, das Koagulum, aus dem Wege seiner Ausdehnung drückt. Diese Gebilde können natürlich mit keinem Teile einer lebenden Zelle, etwa mit dem Vakuolum, identifiziert werden, und ihr Entstehen ist nur durch eine postmortale Koazervation erklärlich (Fig. 8). Sie verschwinden nach einer Viertelstunde, und nach dieser Zeit konnte ich keine Veränderungen mehr wahrnehmen, die Farbe des Anthozyans ist ebenfalls unverändert geblieben.

Unter der Wirkung der KOH- oder NaOH-Moleküle verläuft die Plasmolyse grundsätzlich anders. Um diese Erscheinungen untersuchen zu können, habe ich 2% 1-mol-KOH-Lösung mit 98% 1-mol-KNO_3 und 2% 1-mol-NaOH mit 98% 1-mol-NaCl gemischt (vgl. Cholnoky 1952 a) und die Mischungen als Plasmolytika verwendet.

Das KOH + KNO_3-Gemisch verursacht einen nur mäßigen Krampf, die zwei starken negativen Plasmolyseorte an den Querwänden bleiben aber auch hier unverändert erhalten. Die erste optisch manifeste Auswirkung des KOH offenbart sich in der starken Lichtbrechung und verhältnismäßig großen Dicke der Grenzschicht des Protoplasten. Das Vakuolum wird durch die Kontraktion in Stücke zerlegt, welche sich abzurunden bestrebt sind. Ihre abenteuerliche Form ist der ungleichen Viskosität und dem ungleichen Widerstand der Plasmateile zuzuschreiben. Das



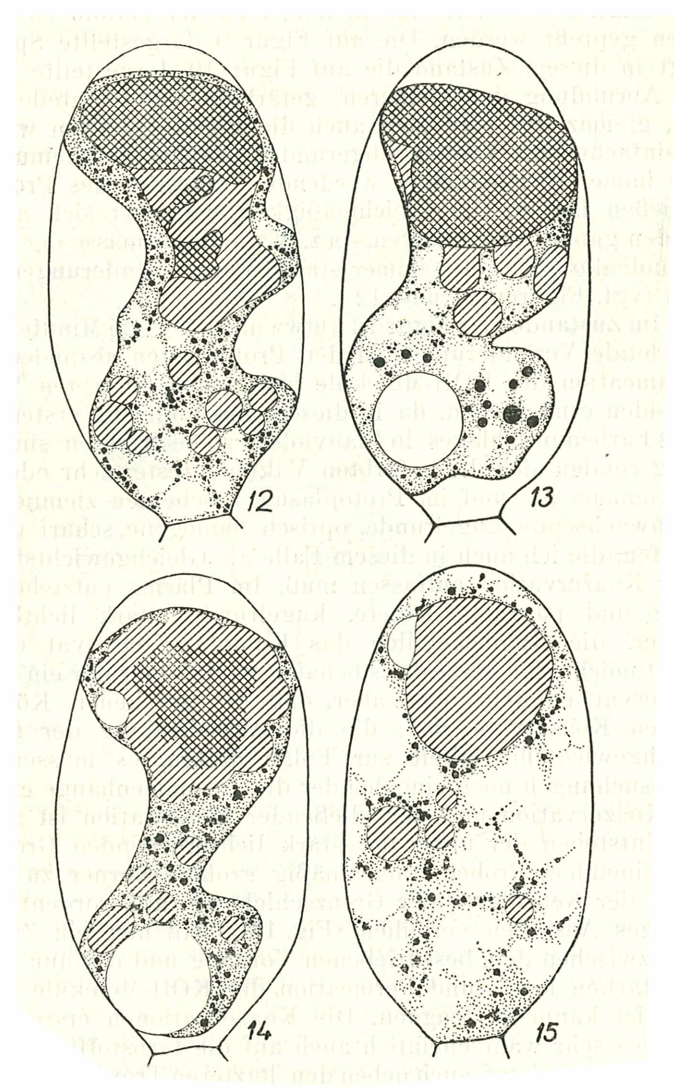
9—11. Plasmolysen und Nekrobiosen durch 2% 1-mol-KOH- + 98% 1-mol-KNO_3-Gemisch. Nähere Erklärung im Text.

Plasma selbst ist am Anfange noch nicht besonders grob gekörnt, die noch verhältnismäßig kleinen Körner wachsen aber schnell heran und verklumpen miteinander, so daß sehr bald, meistens innerhalb von 5—10 Minuten, eine außerordentlich ungleichmäßige Struktur entsteht, in der aber gleichzeitig kleine, sich immer mehr vergrößernde, kugelrunde, optisch homogene Tropfen einer Gleichgewichtsflüssigkeit erscheinen, die ich als Beweis für eine Koazervation auffassen muß (Fig. 9). Während der weiteren Entwicklung nach wenigen Minuten verschwinden diese Tropfen wieder, ihr Entstehen und Verschwinden verursacht aber keine Veränderung im Grad der Kontraktion. Das Entstehen der Tropfen kann man meistens noch während der langsamen Plasmolysezusammen-

ziehung beobachten, und ihr Verschwinden verursacht nicht einmal eine Veränderung in der Konfiguration der gefärbten Vakuolenteile, die durch andere Veränderungen im Plasma desto stärker beeinflußt, zerstückelt und in immer wieder veränderte Zwangslagen gepreßt werden. Die auf Figur 9 dargestellte Spitzenzelle zeigt in diesem Zustand die auf Figur 10 dargestellte Situation. Die Abrundung der kleineren, gefärbten Vakuolenteile schreitet fort, gleichzeitig wird aber auch die Plasmolyseform weitgehend vereinfacht und konvex abgerundet, welche Erscheinungen auf eine immer gleichmäßiger werdende Viskosität des Protoplasten schließen lassen. Die Gleichmäßigkeit erstreckt sich aber nicht auf den ganzen Protoplasten, da z. B. die Hauptmasse der gefärbten Vakuolenkolloide noch immer starke Formveränderungen erleiden muß (vgl. Figuren 11 und 12).

Im Zustande der Figur 12 (etwa nach 20—25 Minuten) müssen sich letale Veränderungen in den Protoplasten abspielen, die die Intrameation der KOH-Moleküle bis zu den gefärbten Vakuolenkolloiden ermöglichen, da in diesem Zustande die ersten Zeichen eines Farbenumschlages in Blauviolett zu beobachten sind. Gleichzeitig runden sich die gefärbten Vakuolenreste mehr oder minder vollkommen ab, und im Protoplasma erscheinen ziemlich schnell heranwachsende, kugelrunde, optisch homogene, scharf umgrenzte Tropfen, die ich auch in diesem Falle als Gleichgewichtsflüssigkeit einer Koazervation auffassen muß. Im Plasma entstehen gleichzeitig und parallel kleinere, kugelrunde, stark lichtbrechende Körper, die wahrscheinlich das Komplex-Koazervat darstellen. Damit möchte ich keinesfalls behaupten, daß hier nur ein Komplex-Koazervat entsteht oder aber, daß die gesehenen Körner diejenigen Koazervate sind, die die Ausscheidung der gesehenen Gleichgewichtsflüssigkeit zur Folge hatten, es müssen weitere Untersuchungen noch eingehender die Zusammenhänge erforschen. Mit Koazervation und anschließender Koagulation ist aber auch das Entstehen der unter der stark lichtbrechenden Grenzschicht erscheinenden, groben, gleichmäßig großen Körner zu erklären, die in der Nekrobiose der Grenzschicht ein außerordentlich grobkörniges Aussehen verleihen (Fig. 13). Daß hier ein Zusammenhang zwischen dem beschriebenen Vorgang und der nun beginnenden starken Intra- und Permeation der KOH-Moleküle existieren muß, ist kaum zu leugnen. Die Koazervationen erstrecken sich übrigens sehr wahrscheinlich auch auf die farbstoffführenden Kolloide, da man jetzt auch neben den letzteren Tropfen einer Gleichgewichtsflüssigkeit beobachten kann, die sicherlich nur aus jenen entstehen konnten. Der Zustand der Figur 14 ist prämortal und

zeigt die beschriebenen Zustände. Ich muß noch bemerken, daß der Farbstoff in diesen Protoplasten schon gänzlich blauviolett ist und auch nach der nunmehr schnell eintretenden Desorgani-

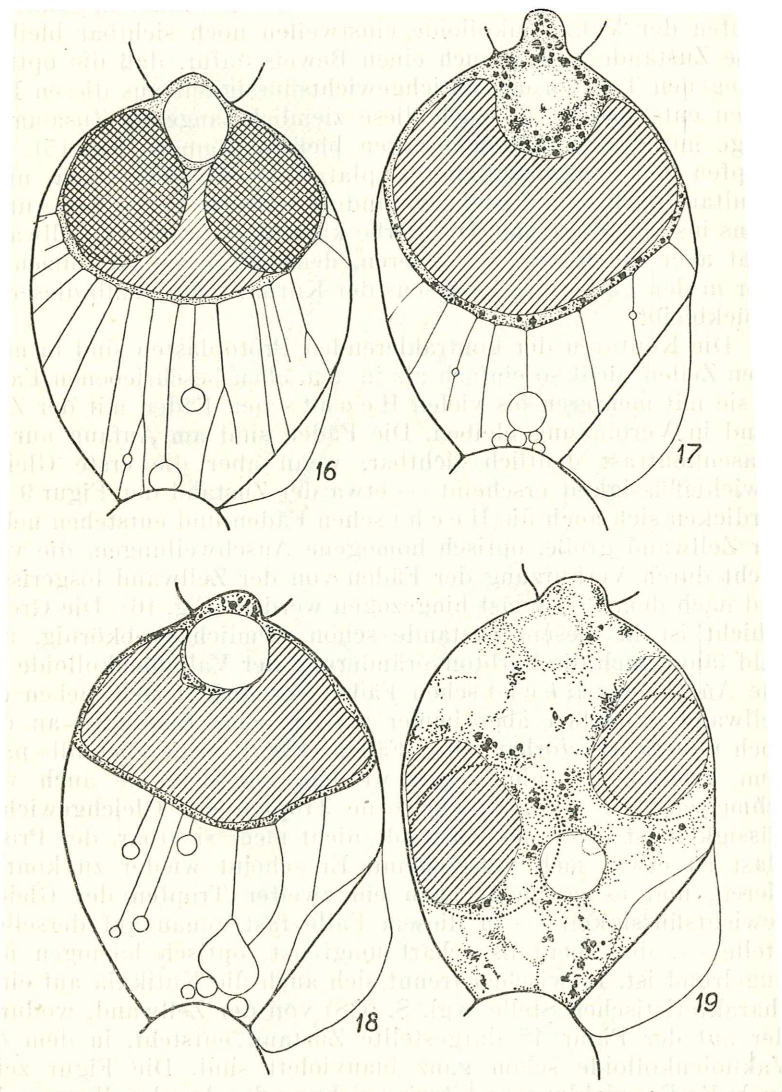


12—15. Plasmolysen und Nekrobiosen durch 2% 1-mol-KOH- + 98% 1-mol-KNO_3-Gemisch. Nähere Erklärung im Text.

sation, wobei die gefärbten Vakuolenkolloide kürzer oder länger „überleben“, unverändert bleibt. Nach dem Bersten der Grenzschicht des Protoplasten zerstreuen sich die Plasmareste im Lumen der Zelle, zwischen denen die vollkommen abgerundeten, gefärbten Tropfen der Vakuolenkolloide einstweilen noch sichtbar bleiben. Diese Zustände liefern auch einen Beweis dafür, daß die optisch homogenen Tropfen der Gleichgewichtsflüssigkeit aus diesen Kolloiden entstammen, da auch diese ziemlich lange im Zusammenhange mit den gefärbten erhalten bleiben können (Fig. 15). Die Tropfen der Vakuolenkolloide platzen wohl bald, aber nicht simultan, nach dem Platzen verändert sich die Farbe des Anthozyans ins lebhaft Grüne. Die Farbe kann dann wohl die Zellwand, nicht aber die Kutikula passieren, demzufolge sie im Lumen — oder in den Fällen des Loslösens der Kutikula innerhalb dieser — zurückbleibt.

Die Konturen der kontrahierenden Protoplasten sind in mehreren Zellen nicht so einfach als in dem oben beschriebenen Falle, da sie mit mehreren bis vielen Hechtschen Fäden mit der Zellwand in Verbindung bleiben. Die Fäden sind am Anfang nur im Phasenkontrast deutlich sichtbar, wenn aber die erste Gleichgewichtsflüssigkeit erscheint — etwa der Zustand der Figur 9 —, verdicken sich auch die Hechtschen Fäden und entstehen neben der Zellwand große, optisch homogene Anschwellungen, die vielleicht durch Verkürzung der Fäden von der Zellwand losgerissen und nach dem Protoplast hingezogen werden (Fig. 16). Die Grenzschicht ist in diesem Zustande schon ziemlich grobkörnig, und bald fängt auch die Farbtonveränderung der Vakuolenkolloide an. Die Anzahl der Hechtschen Fäden vermindert sich, neben der Zellwand entstehen aber immer wieder neue Tröpfchen an den noch unverkürzt vorhandenen Fäden (Fig. 17), die ebenfalls nach dem Protoplasten hingezogen werden, mit dem sie auch verschmelzen. Der schon beschriebene Tropfen der Gleichgewichtsflüssigkeit ist in diesem Zustande nicht mehr sichtbar, der Protoplast ist etwas mehr ausgedehnt. Er scheint wieder zu kontrahieren, und es erscheint auch ein zweiter Tropfen der Gleichgewichtsflüssigkeit — in diesem Falle fast genau auf derselben Stelle —, der ebenfalls scharf umgrenzt, optisch homogen und kugelrund ist. Inzwischen trennt sich auch die Kutikula auf einer charakteristischen Stelle (vgl. S. 538) von der Zellwand, wodurch der auf der Figur 18 dargestellte Zustand entsteht, in dem die Vakuolenkolloide schon ganz blauviolett sind. Die Figur zeigt auch die Entwicklung und Zurückziehung der Anschwellungen der Hechtschen Fäden.

Das Absterben fängt mit dem Bersten der grobkörnigen Grenzschicht an. Zwischen den Plasmatrümmern bleiben einige Zeit lang nur noch die vollkommen abgerundeten Vakuolenreste über, deren



16—19. Plasmolysen und Nekrobiosen durch 2% 1-mol-KOH- + 98% 1-mol-KNO_3-Gemisch. Nähere Erklärung im Text.

letzte Formveränderung durch die unterbrochene Linie in der Figur 19 angedeutet wurde. Ebenso wie nach der NaCl-Plasmolyse (Fig. 8), entsteht auch hier noch eine postmortale Koazervation, da auch hier sehr oft ein Tropfen der Gleichgewichtsflüssigkeit erscheint. Nach dem Platzen der Vakuolenreste wird das Zelllumen bis zu der abgehobenen Kutikula durch die nunmehr ins lebhaft Grüne umgeschlagene Farbstofflösung erfüllt.

Die Plasmolyse durch NaOH + NaCl verläuft im großen und ganzen gleich, ich konnte aber eine etwas abweichende Entwicklung des Gleichgewichtsflüssigkeitstropfens beobachten, der hier meistens in der Nähe der Grenzschicht des Protoplasten entsteht. Daß diese am Anfang optisch homogene Flüssigkeit doch ein Kolloid und wohl ein Sol ist, wird dadurch bewiesen, daß in ihr sehr oft bald stark lichtbrechende Körner entstehen, die durch eine Entmischung oder vielmehr durch eine zweite Komplexkoazervatbildung erklärlich sind (Fig. 18). Wie in der Figur deutlich ersichtlich, entstehen an einer oder mehreren Stellen im Protoplasten beinahe immer in größerer Anzahl besonders grobe Körner. Ob diese mit der Ausbildung der Gleichgewichtsflüssigkeitstropfen in einem Zusammenhange stehen, konnte ich vorläufig nicht entscheiden, daß sie aber durch die intrameierenden NaOH-Moleküle verursacht werden, muß ich als sehr wahrscheinlich annehmen, besonders, da in diesem Stadium auch die Grenzschicht die schon bei der KOH-Wirkung beschriebene, besonders grobkörnige Struktur aufweist. Das Verschwinden des Gleichgewichtsflüssigkeitstropfens ist hier nicht vollkommen, die Grenzschicht wird allmählich undeutlich, die Körnchen, die in dem Tropfen entstanden, bleiben aber sichtbar, und es erscheint auch eine Verbindung mit dem Protoplasten, die später durch Aufquellung immer deutlicher wird (Fig. 19 und 20). Durch Verkürzung der Verbindungsfäden werden auch diese Körner, die auch selbst durch Aufquellung (?) vergrößert werden, nach dem Protoplast gezogen.

Die Veränderungen in der Viskositätsverteilung und die Deformation der gefärbten Vakuolenkolloide verlaufen ebenso wie ich sie für die KOH + KNO_3-Plasmolyse beschrieben habe, auch die Permeation der NaOH-Moleküle, Farbtonveränderung, zweites Erscheinen der Gleichgewichtsflüssigkeitströpfchen und Degeneration gehen ebenso wie bei KOH vor sich.

Einen gänzlich abweichenden Verlauf der Plasmolyse konnte ich bei Anwendung eines mit HCl gemischten Plasmolytikums (2% 1-mol-HCl + 98% 1-mol-NaCl) beobachten. Die Plasmolyse fängt hier mit einem außerordentlich heftigen Krampf an, der den Protoplasten auch von den starken negativen Plasmolyseorten der Quer-

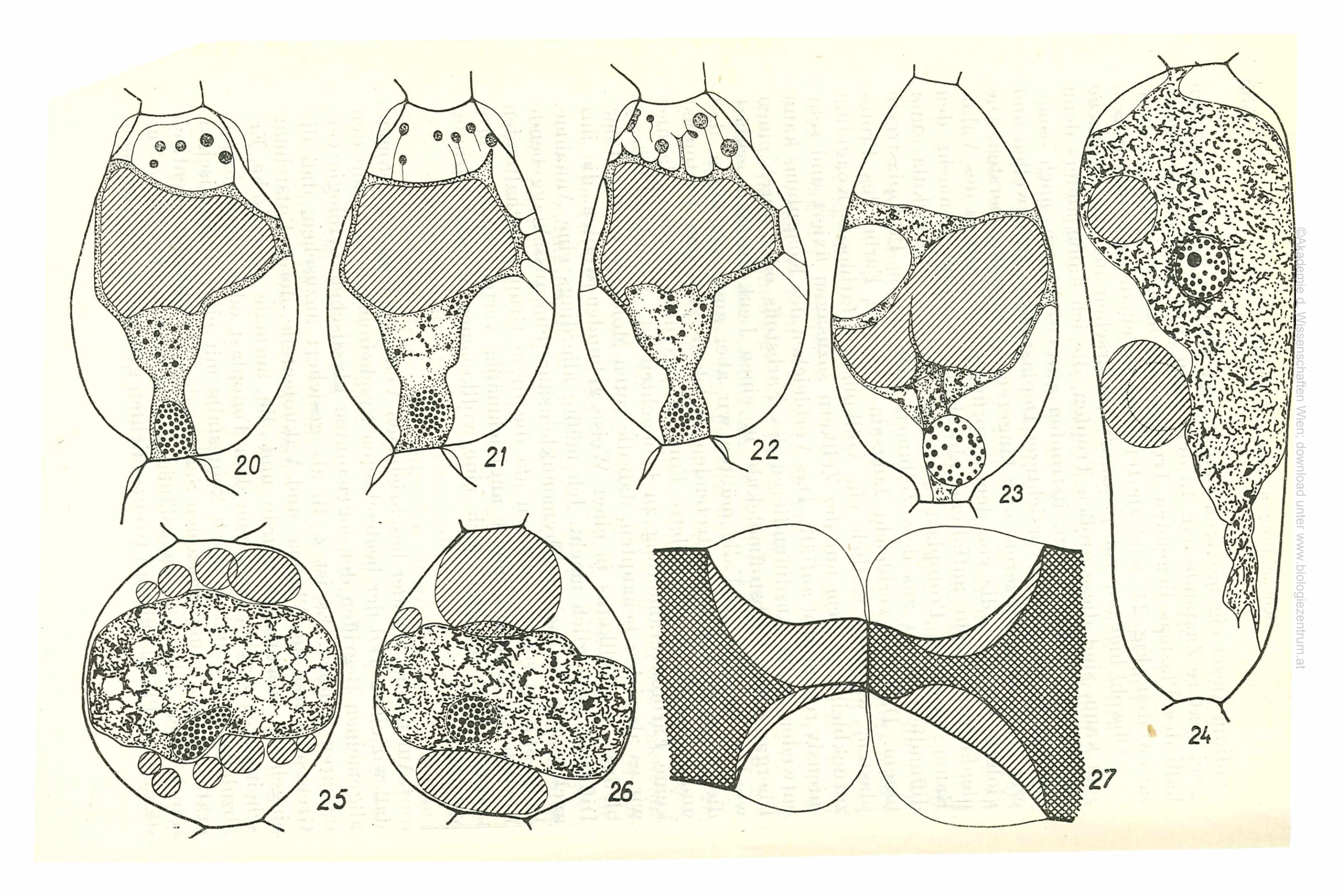
wände losreißen kann. Die Grenzschicht ist schon am Anfange sehr deutlich, stark lichtbrechend, aber nicht gekörnt, der Zellkern erscheint schon in den ersten Minuten, im Gegensatz zu den KOH- und NaOH-Plasmolysen, ebenfalls außerordentlich deutlich, stark angeschwollen und durch Koagulation sehr unnatürlich grobkörnig. Die Intra- und Permeation der Salzsäure geht schon in den ersten Minuten der Plasmolyse vor sich, was durch den Farbenumschlag des ursprünglich violetten Anthozyans in lebhaftes Rot bewiesen wird (Fig. 21). Hier liegt also ein Fall vor, wo man (am pathologisch veränderten Plasma) einen minimalen Widerstand gegenüber HCl (gegenüber dem ziemlich hohen gegen NaOH und KOH) beobachten und daraus auf ein hauptsächlich aus Eiweißmolekülen bestehendes Filtersystem schließen kann. Im Falle eines hauptsächlich aus Fetten oder Lipoiden bestehenden Filters müßte die Sachlage natürlich umgekehrt sein. Es ist aber auch eine Tatsache, daß der Tonoplast, d. i. die Vakuolumgrenzschicht, weder in dem einen noch in dem anderen Falle ein nennenswertes Hindernis für das Eindringen des Plasmolytikums mehr bildet, da der Farbenumschlag des Anthozyans in beiden Fällen gleichzeitig mit den ersten Zeichen der Intrameation des Plasmolytikums zu beobachten ist. Daß die Annahme einer theoretischen Lipoidschicht um die Vakuolen die beobachteten Erscheinungen nicht erklären kann, ist einleuchtend, wenn wir aber annehmen, daß um das Vakuolum eine Grenzschicht orientierter Moleküle, wie sie an der Grenze zwischen zwei Phasen vorhanden sein muß, vorkommt, ist die Erklärung zwanglos, da in diesem Falle die Störung des kolloidalen Gleichgewichts einer Phase auch die Grenzschicht beeinflussen, in extremen Fällen sogar völlig zerstören muß. Diese Beeinflussung konnte in den Untersuchungen nachgewiesen werden.

Bei den Tradescantia-Zellen geht die Zerstörung der Grenzschicht sehr schnell vor sich, da nach dem ersten Farbenumschlag in Rot die scharfe Grenze der Vakuolen plötzlich verschwindet und der Protoplast nunmehr durch den roten Farbstoff diffus erfüllt wird. Der Farbstoff diffundiert am Anfang nicht aus dem Protoplasten, wird aber durch den Zellkern lebhaft gespeichert, wodurch dieser bald eine auffallend lebhafte, rote Farbe erhält. Die kolloidchemischen Veränderungen sind aber damit noch nicht abgeschlossen, da jetzt auf der Oberfläche der koagulierten, nunmehr vollkommen unbeweglichen Protoplasten kleine blauviolette Ausstülpungen erscheinen, die zwischen Protoplast und Zellwand in das Lumen eindringen, sich vergrößern und miteinander verschmelzen können, dabei aber ihre scharfe Kontur und optisch manifeste Grenzschicht beibehalten. Die Figur 22 zeigt ein Anfangs-

stadium dieser eigenartigen Gebilde, die Figuren 23 und 24 stellen zwei spätere Zustände dar. In der ersten (Fig. 23) sind die außerhalb des Plasmas liegenden Tropfen voneinander noch getrennt, im zweiten (Fig. 24) sind sie teilweise miteinander verschmolzen.

Obwohl hier nur von postmortalen Erscheinungen die Sprache sein kann, sind diese großen Tropfen, die ich kaum anders denn als Gleichgewichtsflüssigkeitstropfen auffassen kann, noch osmotisch aktiv, da sie bei vorsichtiger Deplasmolyse anschwellen und erst nach einer kürzeren oder längeren Ausdehnung bersten. Die violette Farbe — die von dem ursprünglichen Farbton des Vakuolenfarbstoffs sehr auffallend abweicht — erfüllt nunmehr den Raum zwischen Protoplast und Zellwand (d. i. Kutikula) und diffundiert weder aus dem Zellumen noch in die Protoplastreste hinein. Dagegen verbleicht langsam die rote Farbe des Protoplasten, wodurch endlich ein vollkommen farbloses Koagulum zurückbleibt, in dem nur der Zellkern sozusagen fixiert und sehr intensiv rot gefärbt auffällt. Das Verbleichen des Koagulums kann entweder durch Ausdiffundieren des Farbstoffs oder durch einen Übergang der Farbstoffmoleküle in einen Leukozustand erklärt werden; im ersteren Falle müßten wir aber auch annehmen, daß die aus dem Koagulum tretenden Moleküle zwischen Protoplast und Zellwand in die violette Form übergeführt werden, da hier keine Farbtonveränderung zu beobachten ist. Jedenfalls müssen wir es als sicher behaupten, daß die roten Moleküle in dem Überbleibsel des Zellkerns in einer Weise gebunden werden, die ihre Diffusion unmöglich macht. Ich müßte allerdings eine Annahme, nach welcher hierbei die Thymonukleinsäure eine ausschlaggebende Rolle spielen sollte, ablehnen, da die diese Gruppe enthaltenden Eiweiße im Zellkern immer ungleichmäßig verteilt sind („Chromatin"), und da hier doch eine vollkommen diffuse Färbung vorliegt.

Auf Grund der hier beschriebenen Versuche muß ich betonen. daß wir einen Teil der beobachteten Erscheinungen nicht mit den allgemeinen Begriffen der sogenannten klassischen Zytologie vereinbaren können. Es ist z. B. als gesichert anzusehen, daß die Grenzschichten der Plasma- und Vakuolenteile, deren Entstehung eingehend beschrieben wurde und die normale osmotische Erscheinungen zeigen, nicht von dem Tonoplast oder Plasmalemma abzuleiten sind und so auch keinesfalls mit einer theoretischen, präformierten, semipermeablen Schicht der Protoplasten identisch sein können. Ich muß zwangsläufig daraus folgern, daß unter Umständen im Plasma überall Grenzschichten gebildet werden können,


20
21
22
23
24
25
26
27

welche Feststellung auch mit meinen bisherigen Beobachtungen gut übereinstimmt (Cholnoky 1952 b, 1953). Wenn wir demzufolge behaupten, daß die optisch manifesten Grenzschichten „Gelegenheitsstrukturen", d. i. keine Ursachen, sondern Folgen eines Teiles der hier beschriebenen Erscheinungen sind, wird auch die Erklärung der beobachteten Tatsachen zwanglos.

In der Literatur sind allerdings sehr viele Erscheinungen beschrieben, die nur auf diese Weise erklärlich sind, da man doch kaum annehmen könnte, daß nur durch Plasmolyse Grenzschichten entstehen können; im Gegenteil müssen alle Einflüsse, die einen Teil oder die Gesamtheit der Protoplasmakolloide in ihrer kolloidalen Dispersion beeinflussen, zu ähnlichen Folgen leiten. Daß dadurch viele Beobachtungen über die Farbstoffaufnahme, Lebendfärbung usw. viel deutlicher werden, kann man kaum bezweifeln. Die Tatsache, daß man bei diesen Grenzschichten mit dem Mikromanipulator mechanische Eigenschaften entdecken kann (Plowe 1931 a und b, Chambers und Höfler 1931, Höfler 1932, 1951), ist noch keinesfalls ein Beweis dafür, daß sie auch in der unversehrten Zelle präformiert existieren müssen und so als Organellen der Zelle aufzufassen wären.

Auf Grund der kolloidphysikalischen Untersuchungen von Bungenberg de Jong (1932, 1936 oder seine Zusammenfassung 1947), die meiner Ansicht nach erstaunlich wenig Beachtung in der neuzeitlichen zytologischen Literatur gefunden haben, sind die hier beschriebenen Befunde gut erklärlich; so ist z. B. das postmortale Erscheinen und Verschwinden der Gleichgewichtsflüssigkeit nur auf Grund der Koazervatbildung verständlich. Die letalen und postmortalen Koazervationen liefern auch für die schrittweise Desorganisation der Protoplasten eine stichhaltige Erklärung.

Die Permeabilität scheint auf Grund dieser Untersuchungen nicht von einer Haut- oder Grenzschicht des Protoplasmas abhängig, sondern eine Funktion des gesamten Plasmas zu sein, dessen Teile die Diffusionsbewegungen der Moleküle und Ionen auf verschiedene Weise hemmen, wodurch die verschiedenen osmotischen Eigenschaften der Zellbestandteile erklärlich werden. Wenn im Plasma Koazervate entstehen, und das Entstehen solcher

---

Erklärung zu nebenstehenden Abbildungen.

20—22. Plasmolyse und Nekrobiose durch 2% 1-mol-NaOH- + 98% 1-mol-NaCl-Gemisch; 23—26. dieselbe durch 2% 1-mol-HCl- + 98% 1-mol-NaCl-Gemisch; 27. Abhebung der Kutikula nach Plasmolyse in 1-mol-KNO_3. Nähere Erklärung im Text.

ist auf Grund der beschriebenen Erscheinungen kaum zu leugnen, muß sich auch die Semipermeabilität verändern, welche Veränderungen durch die Untersuchung der KOH- und NaOH-Plasmolysen tatsächlich deutlich genug hervortreten (am Anfang keine Intrameation — Entstehen der Koazervate, die nicht nur durch Strukturveränderungen, sondern auch durch Erscheinen der Gleichgewichtsflüssigkeit angedeutet werden —, nach der Koazervation Permeation, angedeutet durch den Umschlag der gefärbten Vakuolenkolloide).

Ich kann für die Erklärung der Erscheinungen keinesfalls annehmen, daß organellenartige Hautschichten existieren müßten, die für die Semipermeabilität verantwortlich wären, da in diesem Falle die auf den Figuren 2, 5, 8, 15, 19 usw. dargestellten Zustände vollkommen unverständlich wären.

Die Wahrscheinlichkeit der Koazervationen wird durch die beschriebene postmortale Erscheinung der Gleichgewichtsflüssigkeit noch mehr erhöht, und da diese Tropfen durch „Deplasmolyse" ebenfalls anschwellen, d. i. osmotisch reagieren, und so semipermeabel sind, ein Plasmalemma oder einen Tonoplasten aber nicht besitzen, ist es bewiesen, daß die Annahme eines besonderen osmotischen „Organs" für die Erklärung der Semipermeabilität nicht nötig ist. In diesem Zusammenhange ist es sehr interessant, daß ähnliche Ergebnisse auch unter den viel einfacheren Verhältnissen der geschwollenen Stärke, wo früher ebenfalls das Vorhandensein einer semipermeablen Hautschicht angenommen wurde, erzielt werden konnten (Badenhuizen 1953).

Diese Untersuchungen haben mir Gelegenheit gegeben, auch einige Tatsachen der Anschwellung der Kutikula — die ich einfachheitshalber so nennen werde, obzwar van Iterson jr. (1937) nachweisen konnte, daß sie von der normalen Kutikula abweichende Baueigenschaften aufweist — beobachten zu können.

Bekanntlich haben Martens (1932) und van Iterson jr. (1937) beobachtet, daß sich die Kutikula der Haarzellen besonders in welkenden Blüten von den inneren Zellwandschichten nach Behandlung mit H_2O, hyper- und hypotonischen Lösungen oder Salzsäure abheben kann. Martens behauptet, daß die so der Kutikula beraubten Zellen noch teilungsfähig wären (dies wird von van Iterson jr. widerlegt). Van Iterson jr. schreibt die Erscheinung der Auswirkung eines Enzyms zu, das das Protopektin zwischen Kutikula und Membran zur Quellung bringen sollte.

Bei den Rohrzucker-, KNO_3- und NaCl-Plasmolysen ist es mir aufgefallen, daß die Kutikula für diese Moleküle impermeabel ist, da die Plasmolysen am Anfang nur in der Nähe der Wundstellen, wo die Haare von den Staubblättern abgeschnitten wurden, erscheinen und langsam und allmählich nach der Spitze zu fortschreiten. Eine künstliche Verwundung in den höhergelegenen Abschnitten der Haare (z. B. durch einen Nadelstich) hat genügt, um auch dort eine Plasmolyse in den unversehrt gebliebenen Zellen der Umgebung hervorzurufen.

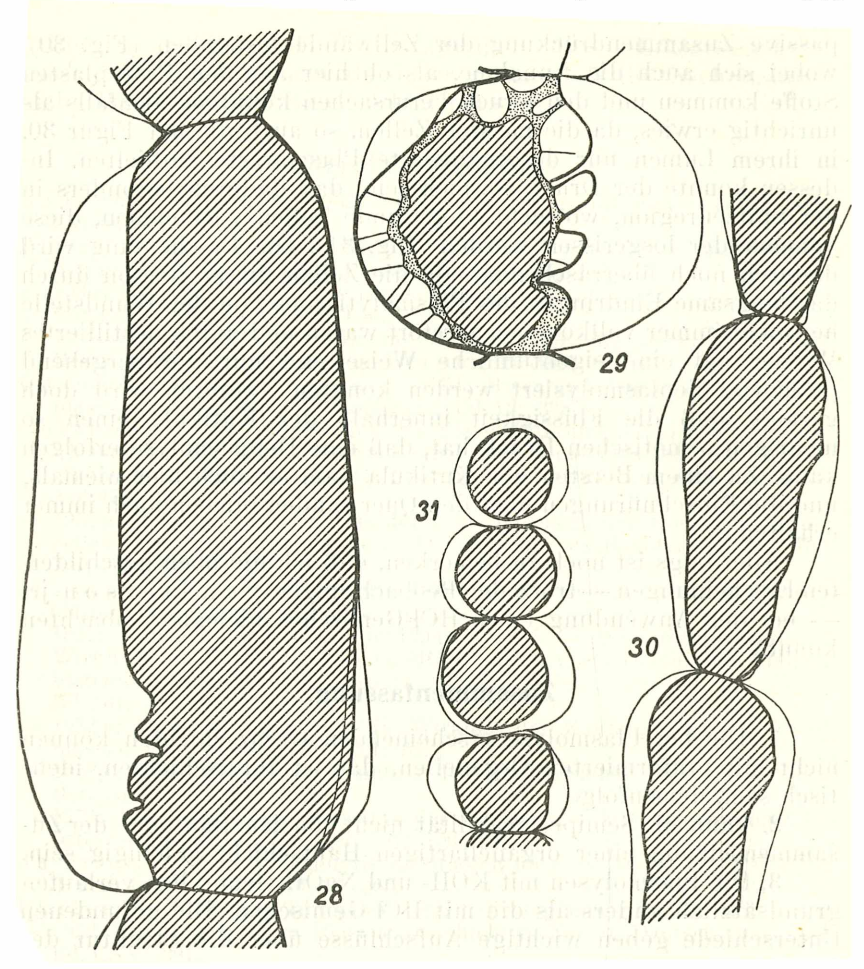
Bei der Deplasmolyse, d. i. beim Ersatz der Zucker- oder Salzlösung durch H_2O, habe ich unmittelbar die Loslösung der Kutikula von der Zellwand beobachtet, die niemals in der Nähe der Wundstelle, sondern in der Spitze erfolgt, und die dort eine erhebliche Ausdehnung erreichen kann. Es war sehr auffallend, daß am Anfang nur sehr kleine Abhebungen in der Nähe der Querwände erschienen, wodurch meistens eine rhythmische Konfiguration zustande kam, die, wenn der osmotische Druck der Umgebung nur langsam abnahm, ziemlich lange erhalten bleiben konnte (Fig. 27). Während der weiteren Entwicklung erschienen der Figur 28 ähnliche Zustände, in welchen immer wieder zu beobachten war, daß der innere Druck die Zellwände manchmal ganz harmonikaartig zusammenpreßt, aber auch, daß die Kutikula in der Nähe der Querwände meistens haften bleibt. Wenn sie aber doch durch einen besonders hohen inneren Druck oder durch eine ganz allgemeine Entwicklung der Erscheinung in einem längeren Abschnitt der Haare auch an diesen Stellen zum Abheben gezwungen wird, bleibt hier immer eine sehr deutliche, tiefe Einschnürung, die auf einen hier abweichenden Mizellarbau schließen läßt (vgl. auch van Iterson jr. 1937).

Die Loslösung der Kutikula kann ziemlich lange sichtbar bleiben, nach längerer Zeit verschwindet sie aber vollkommen, so daß ich annehmen mußte, daß inzwischen durch Diffusion über die Wundstelle der innere und der äußere osmotische Druck ausgeglichen und so die Abhebung durch die Elastizität der Kutikula wieder rückgängig gemacht wurde. Ein Bersten der Kutikula konnte ich niemals beobachten, so daß ich die diesbezüglichen Beobachtungen von Martens (1932) und van Iterson jr. (1937) den artlichen Eigenschaften oder dem physiologischen Zustand der von ihnen untersuchten Tradescantien oder auch ihren Methoden zuschreiben muß.

Das Fortschreiten der Plasmolyse nach der Haarspitze zu und die Erscheinungen der Abhebung der Kutikula haben mich gezwungen, den ganzen Vorgang als eine osmotische Erscheinung

aufzufassen, und so habe ich es angenommen, daß die Kutikula der Tradescantia-Haare — im Gegensatz zu der allgemeinen Auffassung — nur für Wasser leicht permeabel ist, da man anders den bei der Deplasmolyse entstehenden hohen inneren Druck nicht verstehen könnte. Bei der Behandlung der Haare mit KOH- oder NaOH-Gemischen erwies sich aber diese Erklärungsweise unhaltbar, da diese ebenfalls 1 mol Salz enthaltenden Gemische unmittelbar am Anfang ihrer Einwirkung die sonst nur bei der Deplasmolyse gesehene Loslösung der Kutikula verursachten. Der so unter der Kutikula entstehende Druck ist so groß, daß die Zellwände dadurch abenteuerlich gewellt werden, da die seitliche Verbreiterung der Kutikula die Längsachse der Zellen sehr beträchtlich verkürzt hatte (Fig. 29). Die Plasmolyse der Protoplasten hat sich aber ungestört auch in solchen Zellen weiter entwickelt, ein Beweis dafür, daß der Wasserentzug aus dem Protoplasten ungehindert blieb. Hier kann man natürlich bei der Abhebung der Kutikula nicht an einen osmotischen Effekt denken, da die Flüssigkeit innerhalb der Kutikula theoretisch einen gleich hohen oder niedrigeren osmotischen Druck wie die in der Umgebung der Haare haben muß. Es wäre also anzunehmen, daß die Schwellung eines Stoffes, die van Iterson jr. (1937) als Erklärung ähnlicher Erscheinungen heranzieht, wirklich die Ursache der Abhebung wäre. Diese Annahme ist aber ebenfalls unhaltbar, denn wenn man das Vorhandensein eines anschwellenden Stoffes zwischen Kutikula und Zellwand annimmt, müßte die Zellwand auch unter Druck stehen und mehr oder minder gleichmäßig konvex in das Lumen gedrückt werden. Die Form der Zellwände zeigt aber deutlich, daß sie nicht unter Druck stehen, im Gegenteil, gänzlich schlaff eine Stellung einnehmen, die teilweise durch den Zufall, zum anderen Teil durch etwaige Hindernisse, wie z. B. Teile der Protoplasten, bestimmt wird. Die Drucksphäre erstreckt sich demzufolge vom Protoplasten — und nicht von der Zellwand — bis zu der Kutikula und entsteht sicher nicht durch eine — mehr als „Deus ex machina" herangezogene — Enzymwirkung. Dieser Druck muß höher sein als der osmotische Druck des Plasmolytikums, da die Kutikula stark nach außen vorwölbt und durch den inneren Druck ausgedehnt wird. Da es in diesem Falle sicher verfehlt wäre, zur Erklärung der Tatsachen eine Hypothese aufzustellen, halte ich es zweckmäßiger, die Erscheinungen zu konstatieren und die Aufklärung der Ursachen weiteren Untersuchungen zu überlassen.

Die am Anfang der NaOH- und KOH-Plasmolysen entstehenden Abhebungen können lange erhalten bleiben, aber auch, zu-



28. Abhebung der Kutikula nach Plasmolyse in 1-mol-KNO_3; 29—31. dieselbe in 2% 1-mol-NaOH- + 98% 1-mol-NaCl-Gemisch.

mindest teilweise, wieder verschwinden. Nach dem Ablauf der Plasmolyse, also nach $1^1/_2$—$2^1/_2$ Stunden, konnte ich durch Überführen der Haare in destilliertes Wasser immer eine sehr starke Abhebung und so die Entwicklung eines sehr hohen inneren Druckes beobachten, wobei sich, gänzlich ungeachtet, wie weit die Desorganisation der Protoplasten gegangen war, den beschriebenen ähnliche Erscheinungen zeigten. Ich konnte immer wieder eine

passive Zusammendrückung der Zellwände feststellen (Fig. 30), wobei sich auch die Annahme, als ob hier aus den Protoplasten Stoffe kommen und den Druck verursachen könnten, ebenfalls als unrichtig erwies, da die meisten Zellen, so auch die der Figur 30, in ihrem Lumen nur desorganisierte Plasmareste enthielten. Indessen konnte der Druck so hoch sein, daß dadurch besonders in der Spitzenregion, wo mehr kugelrunde Zellen vorkommen, diese voneinander losgerissen wurden (Fig. 31). Die Erscheinung wird dadurch noch überraschender, da die Zellen dieser Region durch das langsame Eindringen des Plasmolytikums von der Wundstelle her nicht immer vollkommen zerstört waren und durch destilliertes Wasser auf eine eigentümliche Weise und nur vorübergehend prämortal deplasmolysiert werden konnten. Dadurch wird doch gezeigt, daß die Flüssigkeit innerhalb der Kutikula einen so niedrigen osmotischen Druck hat, daß eine Deplasmolyse erfolgen kann. Zu einem Bersten der Kutikula kam es auch hier niemals, und die Einschnürungen über den Querwänden blieben auch immer erhalten.

Allerdings ist noch zu bemerken, daß ich die oben geschilderten Erscheinungen — trotz den Beobachtungen van Iterson jr. — bei der Anwendung eines HCl-Gemisches niemals beobachten konnte.

Zusammenfassung.

1. Die bei Plasmolyse erscheinenden Grenzschichten können nicht mit präformierten Organellen, das ist Hautschichten, identisch sein, demzufolge

2. kann die Semipermeabilität nicht von dem Bau oder der Zusammensetzung einer organellartigen Hautschicht abhängig sein.

3. Die Plasmolysen mit KOH- und NaOH-Gemischen verlaufen grundsätzlich anders als die mit HCl-Gemischen. Die gefundenen Unterschiede geben wichtige Aufschlüsse über die Struktur des Protoplasmas.

4. Viele der gesehenen Erscheinungen sind nur durch Annahme fortschreitender Koazervationen erklärlich.

5. Die Vergleichung der Plasmolysen und Nekrobiosen scheint darauf hinzudeuten, daß die Ursachen der Semipermeabilität in dem Protoplasma selbst zu suchen sind.

6. Postmortale kolloidale Veränderungen konnten nachgewiesen werden.

7. Die Loslösung der Kutikula wurde ebenfalls untersucht, es wurde festgestellt, daß sie in gewissen Fällen wohl durch Semipermeabilität erklärlich zu sein scheint, aber auch, daß das Ver-

halten in KOH- und NaOH-Lösungen diese Erklärungsweise ausschließt. Es darf auch als sicher gelten, daß die Erscheinungen nicht durch Enzymwirkung erklärlich sind.

Literaturverzeichnis.

Badenhuizen, N. P., 1953: Swollen starch grains and osmotic cells. Experientia, Bd. IX: 136.

Bungenberg de Jong, H. G., 1932: Die Koazervation und ihre Bedeutung für die Biologie. Protoplasma, Bd. 15: 110.

— 1936: La coacervation, les coacervats et leur importance en Biologie. Tome I et II. Hermann & Cie., Paris.

— 1947: Kapitel III. bis VII. in Leerboek der Algemene Plantkunde. Herausg. v. V. J. Koningsberger, II. Aufl. II. Teil.

Chambers, R. and Höfler, K., 1931: Micrurgical studies on the tonoplast of Allium cepa. Protoplasma, Bd. 12: 338.

Cholnoky, B. J., 1950: Einfluß des Plasmolytikums auf den Verlauf der Plasmolyse bei den Epidermiszellen der Blumenblätter von Senecio cruentus („Cineraria" Hort.). Portugaliae Acta Biologica, Série A, Vol. III: 67.

— 1951 a: Beiträge zur Kenntnis der Protoplasmatik der Korollaepidermiszellen der Primula sinensis c. Dazzler und c. Blender. Österr. Bot. Zeitschr., Bd. 98: 491.

— 1951 b: Über farbstofführende Zellen der Nemesia strumosa-Blumenblätter. Protoplasma, Bd. XL: 152.

— 1952: Beobachtungen über die Plasmolyse I. — Die protoplasmatische Wirkung von NaCl-, NaOH- und HCl-Gemischen auf Delphinium-Blumenblattzellen. Sitzungsber. d. Österr. Akad. d. Wiss., math.-nat. Kl., Abt. I, Bd. 161, S. 539.

— 1952 a: Beobachtungen über die Wirkung der Kalilauge auf das Protoplasma. Protoplasma, Bd. XLI: 57.

— 1952 b: Ein Beitrag zur Kenntnis des Plasmalemmas. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. LXV: 369.

— 1953: Ein Beitrag zur Kenntnis der Plasmolyse der Oedogonium-Zelle. Österreichische Bot. Zeitschr., Bd. 100: 226.

de Vries, H., 1885: Plasmolytische Studien über die Wand der Vakuolen. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 16: 465.

Höfler, K., 1932: Zur Tonoplastenfrage. Protoplasma, Bd. 15: 462.

— 1952: Zur Kenntnis der Plasmahautschichten. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. LXV: 391.

Martens, P., 1932: Phénomènes cuticulaires et phénomènes osmotiques dans les poils staminaux de Tradescantia. La Cellule, Tom. 41: 17.

Plowe, J. Q., 1931 a: Membranes in the plant cell. I. Morphological membranes at protoplasm surfaces. Protoplasma, Bd. 12: 196.

— 1931 b: Membranes in the plant cell. II. Localization of differential permeability in the plant protoplast. Protoplasma, Bd. 12: 221.

Seifriz, W., 1936: Protoplasm. New York and London.

van Iterson jr., G., 1937: A few observations on the hairs of the stamens of Tradescantia virginica. Protoplasma, Bd. 27: 190.